

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
20. Februar 2003 (20.02.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/013557 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 35/64, A61P 17/02
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/08497
- (22) Internationales Anmeldedatum:
31. Juli 2002 (31.07.2002)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
101 38 303.7 10. August 2001 (10.08.2001) DE
101 49 153.0 4. Oktober 2001 (04.10.2001) DE
- (71) Anmelder: AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND
GMBH [DE/DE]; Brüningstrasse 50, 65929 Frankfurt
(DE).
- (72) Erfinder: NIETSCH, Karl-Heinz; Ahornstrasse 1,
41470 Neuss (DE). POOTH, Rainer; Hainer Weg 7,
63303 Dreieich-Götzenhain (DE). MEHLHORN, Heinz;
St. Georgstrasse 21, 41468 Neuss (DE). RUZICKA, T.;
Räuscherweg 43, 40221 Düsseldorf (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Veröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: USE OF FLY LARVAE EXTRACTS FOR THE TREATMENT OF WOUNDS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON FLIEGENLARVENEXTRAKTEN ZUR WUNDBEHANDLUNG

(57) Abstract: The invention relates to the topical application of fly larvae extracts obtained from fly larvae which are killed and extracted in an aqueous medium under cooling conditions or in solvents and freed from non-dissolved components. Different types of fly larvae extracts are suitable for the treatment of superficial or deep chronic and acute wounds of any kind. Said fly larvae extracts have a wound-healing effect and can be obtained from, for instance, the genera *Sarcophaga* or *Lucilia*.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die topische Applikation von Fliegenlarvenextrakten, erhältlich aus Fliegenlarven, die getötet und unter Kühlung in wässrigem Milieu oder in Lösungsmitteln extrahiert und von nicht gelösten Bestandteilen befreit werden. Die Fliegenlarvenextrakte verschiedener Arten eignen sich zur Behandlung von oberflächlichen oder tiefen chronischen und akuten Wunden jeglicher Genese. Die Fliegenlarvenextrakte mit wundheilender Wirkung sind beispielsweise erhältlich aus Fliegenlarven der Gattungen *Sarcophaga* oder *Lucilia*.

WO 03/013557 A1

Verwendung von Fliegenlarvenextrakten zur Wundbehandlung

- 5 Die Erfindung betrifft die topische Applikation von Fliegenlarvenextrakten verschiedener Arten, die beispielsweise zu den Gattungen *Sarcophaga* oder *Lucilia* gehören, zur Behandlung von oberflächlichen oder tiefen chronischen und akuten Wunden jeglicher Genese.
- 10 Die Wundheilung ist ein komplexes Geschehen, bei dem multiple Zielzellen und Zielstrukturen in einer geordneten Abfolge von Prozessen ineinander greifen müssen. Unabhängig von der Wundart (chronisch/akut) laufen diese Prozesse ab, während die Zeitdauer einzelner Phasen variabel ist. Es lassen sich generell drei Hauptphasen unterscheiden, die exsudative Phase, die proliferative Phase und die Epithelisierung-
15 bzw. Reparationsphase.
- In der exsudativen Phase steht die akute Traumatisierung der hämostaseologischen und vasokonstriktischen Reaktionen im Vordergrund. Klinisch imponiert ein Wundödem und der Wundschmerz. Der entstandene Gefäßdefekt wird unter dem Einfluss der Thrombozyten verschlossen. Diese setzen chemotaktisch wirkende
20 Thrombozyten frei. Es kommt zu einer Einwanderung von Makrophagen, Neutrophilen und Lymphozyten. Dadurch wird ein Phagozytosesystem aufgebaut, das hochwirksam für das Gewebedebridement verantwortlich ist.
- Nach Beseitigung von Zelltrümmern beginnt durch die Migration von Fibroblasten und
25 Gefäßendothelzellen die proliferative Phase. Der Zellgehalt nimmt durch die eingewanderten Fibroblasten und Endothelzellen massiv zu. Gleichzeitig werden vermehrt Zytokine und Wachstumsfaktoren freigesetzt, die ihrerseits die Gefäßneubildung und Zellproliferation stimulieren. Zusätzlich findet in dieser Phase ein Matrixumbau statt. Dies erfolgt durch die Bildung und den Umbau von Kollagen Typ III
30 in Kollagen Typ I. Dadurch entsteht ein gut kapillarisiertes, Makrophagen-, Fibroblasten- und Mastzellreiches Granulationsgewebe.

An diese proliferative Phase schließt sich die Epithelisierungs- und Reparatursphase an. In dieser abschließenden Phase kommt es zur Wundkontraktion und zur Migration randständiger Keratinozyten in die Wunde. Die Neoangiogenese und die Kapillardichte nimmt ab. Der Kollagengehalt hingegen nimmt zu. Dieser Prozess ist für die mechanische Festigkeit des entstehenden Narbengewebes relevant.

Bei Störungen dieser komplexen Wechselwirkungen können Verzögerungen der Wundheilung auftreten. In Abhängigkeit von der Genese der beeinträchtigten Prozesse spricht man nach einer 6-8 Wochen lang bestehenden Wunde von chronischen Wundheilungsstörungen. Diese treten bei einer Vielzahl von immunologisch bedingten Erkrankungen, der Varikose, der arteriellen Verschlusserkrankung, nach Infektionen und beispielsweise beim Diabetes mellitus auf. Maßnahmen zur Förderung der Wundheilung dienen der beschleunigten oder regelrechten Abfolge der zuvor beschriebenen Prozesse. Hierbei sind in erster Linie wundreinigende, neben granulationsfördernden Verfahren anzuführen. Durch moderne „Wunddressings“ kann aber auch die Epithelisierung gefördert werden. Eine der Hauptursachen der verzögerten Wundheilung liegt in der mangelnden Formation von Granulationsgewebe. Dies kann entweder durch vermindertes endogenes Wunddebridement verursacht sein, oder es kommt in Folge von Infektionen, Durchblutungsstörungen, immunologischen Erkrankungen zu einer überschüssigen Bildung von Zell- und Gewebedetritus.

Therapeutisch kommen hierbei wundreinigende Maßnahmen zum Einsatz. Ziel der Reinigung ist die Herstellung eines sauberen Wundgrundes. Dazu müssen zunächst Salbenreste und Krusten beseitigt und eventuell vorhandene Nekrosen abgetragen werden. Letzteres geschieht entweder chirurgisch mit dem scharfen Löffel (Kürettage) oder mit Pinzette und Schere. Alternativ kann man enzymatische Salben verwenden, die vorzugsweise denaturiertes Protein abbauen. Sie enthalten Enzyme wie Trypsin, Chymotrypsin, Enzyme aus bovinem Material wie Pankreasenzyme, oder Kollagenase, Fibrolysin, Streptokinase oder Kälberblutdialysate. Parallel hierzu erfolgt die regelmäßige Desinfektion beispielsweise mit Kaliumpermanganat oder mit

Rivanol® -Bädern. Desinfizierende Maßnahmen können auch mit silber- oder mit jodhaltigen Präparationen durchgeführt werden

Die enzymatischen Präparate zeigen allerdings am Patienten häufig nur eine
5 eingeschränkte Wirksamkeit. Denn die Dosierung des Enzyms ist häufig sehr niedrig
und die Halbwertszeit der bekannten Enzympräparate liegt bei 6 bis 12 Stunden. Aus
diesem Grund sind tägliche, auch mehrmalige Verbandswechsel notwendig. Einige der
Präparate sind Kombinationspräparate mit topisch applizierbaren Antibiotika. Der
Nachteil der Kombinationspräparate liegt in der Gefahr einer epikutanen
10 Sensibilisierung. Fast 60-70% der Patienten mit chronischen Ulzera crurum leiden an
einer oder mehreren Sensibilisierungen auf Salbengrundlagen oder anderen
Bestandteilen topischer Externa.

Daher sollte auf den Einsatz lokaler Antibiotika verzichtet werden, da zum einen die
Resistenzentwicklung, zum anderen die Sensibilisierungsrate hoch ist.

15 Ferner ist die Anlegung von Larven (Maden) der Art *Lucilia sericata* auf Wunden
bekannt. Diese Therapie basiert auf uralten volksmedizinischen und teilweise auf
kriegsmedizinischen Erkenntnissen und Beobachtungen über die Verunreinigung von
Kriegsverletzungen mit Fliegenmaden. Die Maden dieser Art ernähren sich
20 ausschließlich von nekrotischem Gewebe. Dabei wird dieses Material durch Sekretion
von Speichel gleichsam vorverdaut und danach erst von der Made aufgenommen. Es
kommt keinesfalls zu einer aktiven Nahrungsaufnahme durch die Maden der *L.*
sericata im Sinne eines Kau- oder Beißaktes. Dadurch ist sichergestellt, dass die
Maden nicht in andere Körperbereiche oder in nicht-betroffene Körperhöhlen
25 eindringen können. Die Madentherapie zeigt sehr hohe therapeutische Effektivität.
Allerdings ist die gegenwärtige Behandlungsmethode extrem kompliziert,
kostenaufwendig und bedarf eines hohen logistischen Aufwandes. Für die Anwendung
am Menschen sind die Maden unter kontrollierten Bedingungen zu züchten. Sowohl für
die Aufzucht als auch für den Transport vom Labor zum Patienten ist Keimfreiheit zu
30 gewährleisten. Die therapeutische Effektivität ist nicht zu dosieren. Zwar ist es möglich
die Anzahl der Maden zu bestimmen, die auf die Wunde aufgebracht wird, nicht aber
die von ihnen erbrachte enzymatische Wirksamkeit. Die Maden selber unterliegen

einem biologischen Entwicklungsablauf, an dessen Ende die Metamorphose der Larve zur Puppe und danach zur Fliege steht. Aus diesem Grund ist die Applikation der Larven engmaschig zu wiederholen. Für Patienten und medizinische Leistungserbringer ist eine hohe Compliance erforderlich, um die Therapie 5 durchzuführen, da kulturelle und zivilisatorische Grenzen psychologisch überwunden werden müssen. Zudem kann das Einhaken der Mundhaken der Larven recht schmerzhaft sein.

In der Patentanmeldung WO 01/31033 wurde ein von lebenden Maden der Art *Lucilia* 10 *sericata* nach außen sekretiertes Protein beschrieben, für das eine wundheilende Eigenschaft angenommen wird. Physiologische Experimente an Wunden, die diese Vermutung stützen könnten fehlen jedoch. In der Anmeldung WO 01/31033 wird die Isolierung einer sehr kleinen Menge des sekretierten Proteins beschrieben, aber ein wirtschaftliches Verfahren zur Gewinnung vermarktungsfähiger Mengen an Protein 15 wäre noch zu entwickeln. Ferner ist eine ölige Formulierung eines Pulvers aus getrockneten Fliegenlarven in Öl bekannt, die zur Wundbehandlung in China eingesetzt wird oder wurde (Yang Zheng.: China-Science: House fly yields medicine, expert say. In: Inter Press Service; 03.09. 1997, 97:314231NLDB). Ein Nachteil des Öls besteht darin, daß es als Nebenwirkung Allergien auslösen kann. Die ölige Galenik 20 des chinesischen Produkts steht dem Stand der Technik zur Wundbehandlung der Medizin in den westlichen Ländern entgegen: nach aktueller und allgemeiner Auffassung sollen moderne Wunddressings ein hydrophiles Milieu aufweisen, bei denen eine bessere Heilung beobachtet wird als bei der Anwendung von wundabdeckenden hydrophoben Formulierungen (Pontieri-Lewis V. (1999) Principles 25 for selecting the right wound dressing. Medsurg Nurs 8:267-70; Casey G (2001) Wound dressings. Paediatr Nurs 13:39-42; Casey G (2000) Modern wound dressings. Nurs Stand 15:47-51; Ruszczak Z, Schwarz RA (2000) Modern aspects of wound healing: an update. Dermatol Surg 26:219-229; Probst W (2000) Lokale Behandlung chronischer Wunden. Pharm Ztg 145:3907-3920; Strobel H-G (2000) Wundfibel; 30 Qualitätsstandards zur Wundbehandlung an der Universitätsklinik Essen. Krankenhauspharmazie 21:350-361). Nachteile ölgiger Galeniken bestehen

insbesondere darin, dass sie die Migration und Funktion von Immunzellen hemmen und die Proliferation von sich neu bildenden Zellen stören.

In dem Bestreben, wirksame Behandlungsverfahren für oberflächliche, tiefe, 5 chronische oder akute Wunden jeglicher Genese zu finden, wurde nun gefunden, dass die erfindungsgemäßen Extrakte aus frischen Fliegenlarven verschiedener Arten beispielsweise der Gattungen *Sarcophaga* oder *Lucilia* die genannten Nachteile beheben können.

- 10 Die erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte stellen eine deutliche Weiterentwicklung der Madentherapie hinsichtlich der Applikation und Dosierung dar. Auch ist die Verwendung der Extrakte in modernen, hydrophilen Wunddressings möglich. Durch die Standardisierung des Herstellverfahrens kann die Therapie besser gesteuert werden. Als Fertigpräparat besitzen die Fliegenlarvenextrakte eine 15 kontinuierliche Leistungsfähigkeit, die nicht vom Entwicklungszyklus der Maden abhängt.

Die Erfindung betrifft daher Fliegenlarvenextrakte, erhältlich aus Fliegenlarven, wobei die Fliegenlarven zuerst gekühlt und dann homogenisiert werden und das erhaltene 20 Homogenisat abschließend von nicht gelösten Bestandteilen der Fliegenlarven befreit wird.

Gegebenfalls kann vor der Homogenisierung ein Extraktionsmedium zugefügt werden. Das Extraktionsmedium enthält Wasser oder ist ein organisches Lösungsmittel. Ferner können die löslichen Bestandteile konserviert oder sofort topisch auf die Wunden 25 appliziert werden. Der erfindungsgemäße Extrakt weist bei topischer Applikation eine wundheilende Wirkung bei oberflächlichen, tiefen, chronischen oder akuten Wunden jeglicher Genese auf.

- 30 Geeignete Fliegenlarven stammen beispielsweise von den Gattungen *Sarcophaga*, *Lucilia*, *Musca*, *Calliphora* und *Stomoxys*. Es können auch Mischungen von

Fliegenlarven aus den genannten Gattungen im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt werden.

Geeignete Arten aus den genannten Gattungen sind beispielsweise *Lucilia sericata*, *Lucilia caesar*, *Lucilia cuprina*, *Sarcophaga carnaria*, *Sarcophaga agrostoma*, *Musca domestica*, *Calliphora erythrocephala*, *Calliphora vicina* oder *Stomoxys calcitrans*. Die Gattungen *Sarcophaga* und *Lucilia* sind beispielsweise ubiquitär vorhanden und ein Fachmann kann diese Insekten leicht auffinden, beispielsweise durch Auslegen von frischem Fleisch.

10 Die Herstellung der erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte erfolgt beispielsweise dadurch, dass Eier oder Larven der Arten *Lucilia sericata* und/oder *Sarcophaga carnaria* auf frischem Fleisch gehalten werden. Die Larven wachsen und gedeihen auf dem Fleisch und werden kurz vor Eintritt in das Verpuppungsstadium geerntet.

Vorteilhaft ist dabei die Larven in der Zeit von Tag 5 bis Tag 8 nach dem Schlüpfen
15 aus dem Ei zu ernten.

Die Tötung und Verarbeitung der Larven erfolgt etwa 5 bis 8 Tage nach dem Schlüpfen der Larven aus dem Ei, jedoch jeweils vor der Verpuppung. Die getöteten Larven werden vor und während der weiteren Verarbeitung zum Fliegenlarvenextrakt
20 gekühlt. Mögliche Kühltemperaturen sind Temperaturen unter 0 °C, also im gefrorenen Zustand, beispielsweise bei Temperaturen von 0 °C bis – 80 °C. Es kann aber auch bei Temperaturen von 0 °C bis 15 °C, bevorzugt von 0 °C bis 10 °C, insbesondere von 2 °C bis 6 °C gearbeitet werden. Die Larven können auch für die Homogenisierung bzw. zur weiteren Verarbeitung eingefroren werden oder bereits im eingefrorenen
25 Zustand zerkleinert und homogenisiert werden.

Die Larven werden dazu zunächst äußerlich weitgehend keimfrei gemacht und von möglichen Sekreten und Exkreten (SE) befreit, die am Madenkörper anhaften könnten. Dies erfolgt durch mehrere Waschschrte in aseptischen Lösungen in absteigender
30 Konzentration. In den letzten Waschschrten wird sterilisierte NaCl-Lösung eingesetzt und dadurch eine weitgehende äußere Keimfreiheit der Larven hergestellt. Ferner

werden dadurch alle Sekrete und Exkrete der Maden abgewaschen und die Maden auf Eis asserviert.

Die Homogenisierung der Larven erfolgt beispielsweise durch mechanisches
5 Zerkleinern oder Ultraschall. Die Fliegenlarven können als solche oder bevorzugt mit
Zusatz eines Extraktionsmediums homogenisiert werden. Pro Gramm Nassgewicht
Fliegenlarven werden 0,1 ml bis 500 ml Extraktionslösung, vorzugsweise 0,5 ml bis
100 ml, ganz bevorzugt 1 bis 5 ml Extraktionslösung zugesetzt. Geeignet sind
insbesondere sterile Extraktionslösungen, beispielsweise aqua purificata,
10 physiologische Salzlösungen, Puffer, Elektrolyt-, Zucker- oder Proteinlösungen und
wässrige Emulsionen sowie organische Lösungsmittel. Auf den Zusatz von
Extraktionsmedien kann auch ganz verzichtet werden und nur die flüssigen
Bestandteile der Maden abgepresst werden.
Der Extrakt kann auch so hergestellt werden, dass die Wirkstoffe durch Zusatz von
15 organischen Lösungsmitteln ausgefällt und nachfolgend extrahiert werden.
Die Trennung des Homogenisats in feste und lösliche Bestandteile erfolgt
beispielsweise durch Filtration oder Zentrifugation. Die Konservierung der
Fliegenlarvenextrakte erfolgt gegebenenfalls durch Einfrieren oder durch
Gefriertrocknung. Ferner können weitere bekannte Mittel zur Stabilisierung von
20 Wirkmolekülen eingesetzt werden, beispielsweise Proteaseinhibitoren, Trehalose,
Ectoin oder Puffer.

Nach Erhalt der homogenen Flüssigkeit wird der Extrakt filtriert, beispielsweise steril
filtriert mit einem Filter, der einen Porendurchmesser von 0,1 μm bis 0,4 μm aufweist.
25 Im letzten Schritt wird der Extrakt aliquotiert und in flüssigem Stickstoff eingefroren.
Die dauerhafte Lagerung erfolgt bei einer Temperatur von etwa -21°C bis -80°C oder
in flüssigem Stickstoff. Die erhaltenen sterilfiltrierten Extrakte können auch lyophilisiert
werden.

30 Die erfindungsgemäßen Extrakte können auch mit üblichen Reinigungsmethoden
weiter gereinigt oder fraktioniert werden wie durch selektive Fällungsschritte oder
chromatografische oder elektrophoretische Verfahren.

Die Erfindung betrifft auch Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen wirksamen Gehalt an den erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte zusammen mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Trägerstoff, Zusatzstoff
5 und/oder anderen Wirk- und Hilfsstoffen.

Aufgrund der pharmakologischen Eigenschaften eignen sich die erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte zur Therapie von oberflächlichen oder tiefen chronischen und akuten Wunden jeglicher Genese.

10

Unter dem Begriff "chronische und akute Wunden jeglicher Genese" werden beispielsweise Wunden verstanden wie Operationswunden, die gezielt oder ungewollt sekundär heilen sollen, Schnitt-, Stich-, Schürf-, Beiß-, Brand-, oder Schussverletzungen, und andere Wunden, die nicht primär mittels chirurgischer Naht
15 oder einem primären Wundverschluss behandelt werden können. Ferner sind mit dem Begriff der akuten Wunden, alle Wunden gemeint, die durch eine Superinfektion nicht primär abheilen können und alle Wunden, deren Manifestation 4 Wochen und weniger beträgt. Chronische Wunden sind alle Verletzungen, die mit der Aufhebung der Integrität des Epithels einhergehen und länger als 4 Wochen manifest sind.
20 Insbesondere sind hiermit schlecht heilende Wunden auf der Basis eines Diabetes mellitus, einer Varikose oder einer Venenthrombose, eines rheumatischen Leidens, einer Vaskulitis, einer arteriellen Verschlusskrankheit, eines Leidens der Lymphgefäße, hämatologischer Erkrankungen und unter oder nach Infektionen der Wunden gemeint.

25

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels, das dadurch gekennzeichnet, dass man die erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und gegebenenfalls weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen in eine geeignete
30 Darreichungsform bringt.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte zur Herstellung von Arzneimitteln zur Therapie von oberflächlichen oder tiefen chronischen und akuten Wunden jeglicher Genese.

5 Die Applikation der erfindungsgemäßen Arzneimittel erfolgt in der Regel topisch.

Geeignete pharmazeutische Zusammensetzungen für die topische Anwendung auf der Haut liegen vorzugsweise als Lösung, Suspension, Puder, liposomalen Formulierungen, Gel, Lotion, Paste, Spray oder Aerosol vor. Als Träger können auch
10 Polyethylenglycole, Alkohole und Kombinationen von zwei oder mehreren dieser Substanzen verwendet werden. Die Aufzählung kann in keiner Weise als einschränkend aufgefasst werden. Die erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte sind abhängig von den Extraktionsbedingungen in einer Konzentration von 0,1 Gew.-% bis 100 Gew.-% der Zusammensetzung vorhanden, beispielsweise von 1,0 Gew.-% bis 60
15 Gew.-%.

Auch eine transdermale Verabreichung ist möglich. Geeignete pharmazeutische Zusammensetzungen für transdermale Anwendungen können als einzelne Pflaster vorliegen, die für einen langzeitigen engen Kontakt mit der Epidermis des Patienten
20 geeignet sind. Solche Pflaster enthalten geeigneterweise die erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte in einer gegebenenfalls gepufferten wässrigen Lösung, gelöst und/oder dispergiert in einem Haftmittel oder dispergiert in einem Polymer. Eine geeignete Wirkstoff-Konzentration beträgt von etwa 0,1 Gew.-% bis 75 Gew.-%, vorzugsweise von 1 Gew.-% bis 70 Gew.-%. Als eine besondere Möglichkeit kann der
25 Wirkstoff, wie beispielsweise in Pharmaceutical Research, 2(6): 318 (1986) beschrieben, durch Elektrotransport oder Iontophorese freigesetzt werden.

Die erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte können ferner auch auf die Wunde appliziert werden durch Wundauflagen aus Gaze, aus Alginaten, aus hydrokolloidalen
30 Materialien, Schaumstoffen und Silikonauflagen, die mit diesen Fliegenlarvenextrakten beschichtet, getränkt oder behandelt wurden und deshalb in der Lage sind; die Fliegenlarvenextrakte in oder auf die Wunde oder Wundoberfläche abzugeben.

Geeignete feste oder galenische Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver, Lösungen, Suspensionen, Emulsionen oder Tropfen, sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung übliche Hilfsmittel oder 5 Trägerstoffe, Verwendung finden. Als häufig verwendete Hilfsstoffe seien Magnesiumcarbonat, Titandioxid, Laktose, Mannit und andere Zucker, Talkum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Cellulose und ihre Derivate, Polyethylenglykol und Lösungsmittel wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole wie Glycerin, genannt.

10

Ferner können die erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte auch in galenischen Zubereitungen eingesetzt werden, die die Fliegenlarvenextrakte in inaktiver Form enthalten und die dann in oder auf die Wunde auftragen werden und durch Zugabe von spezifischen Substanzen aktiviert werden.

15 Einfache Beispiele sind die Verwendung eines Pulvers oder von Lyophilisaten, die mit physiologischen Lösungen (z.B. 0,9% NaCl) aufgelöst werden.

Bei ausreichender Stabilität kann die galenische Zubereitung auch eine Lösung sein.

Die Applikation der geeigneten pharmazeutischen Zusammensetzungen erfolgt nach 20 mechanischer Wundreinigung. Die mechanische Wundreinigung erfolgt beispielsweise durch ein Bad oder Spülung der Wunde mit Ringerlaktat. Die Wunde wird wahlweise nach Applikation der erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakte mittels hydrokolloidaler Wunddressings oder mittels selbstklebender Operations-Folie bedeckt. Verbandswechsel mit jeweils neuer Gabe der erfindungsgemäßen 25 Fliegenlarvenextrakte erfolgen täglich.

Beispiel 1

Herstellung des erfindungsgemäßen Fliegenlarvenextrakts

Larven der Arten *Lucilia sericata* und/oder *Sarcophaga carnaria* wurden auf frischem, 5 und nicht oder gering kontaminiertem Pferdefleisch gehalten und kurz vor Eintritt in das Verpuppungsstadium geerntet. In mehreren Waschschritten in aseptischen Lösungen in absteigender Konzentration und in den letzten Waschschritten in sterifizierter NaCl-Lösung wurde eine weitgehende äußere Keimfreiheit der Larven hergestellt. Danach wurden die Larven dekapitiert, d.h. das vordere Drittel wurde vom 10 Rest des Larvenkörpers abgetrennt. Beide Larventeile wurden sofort getrennt in einem Trägermedium auf Eis asserviert. Danach wurden die Larven homogenisiert. Dies geschah in mehreren Schritten durch mechanische Zerkleinerung und Homogenisation mittels Ultraschall. Auf eine ständige Kühlung bei etwa 4 °Celsius wurde geachtet. Nach Erhalt einer homogenen Flüssigkeit wurde der Extrakt steril filtriert 15 (Milliporefilter). Im letzten Bearbeitungsschritt wurde der Extrakt aliquotiert und in flüssigem Stickstoff eingefroren. Die dauerhafte Lagerung erfolgte bei etwa -21 °C bis -80 °C.

20 Beispiel 2

Wundbehandlung

Bei einer 82 Jahre alten Patientin, die seit Jahren an chronisch rezidivierender *Ulcer* 25 *curum* leidet, wurde der gemäß Beispiel 1 hergestellte Fliegenlarvenextrakt, hergestellt aus gleichen Gewichtsanteilen Maden und physiologischer Salzlösung, mit jeweils 2 ml appliziert. Die Ulzera sind venöser Herkunft und wurden durch die Einnahme von Schmerzmitteln im Sinne einer Vaskulitis mit beeinflusst. Bei Beginn der Behandlung lagen mehrere zum Teil fibrinös belegte Ulzera an beiden Unterschenkeln vor. Nach 30 Rücksprache mit der Patientin begann die Behandlung mit systemischer Gabe von Steroiden und gleichzeitiger lokaler Applikation des gemäß Beispiel 1 hergestellten Fliegenlarvenextrakts zur Förderung des Debridements. Es wurden vergleichend

Fibrolan® Salbe und wässrige Lösungen des erfindungsgemäßen Extraktes eingesetzt. Fibrolan® Salbe ist ein in der Roten Liste angegebenes Präparat enthaltend als Wirkstoffe Plasmin aus Rinderplasma und Desoxyribonuclease aus Rinderpankreas. Bei den Extrakten aus den Larven wurde zwischen den Extrakten aus dem Vorderteil und dem Hinterteil der Larven unterschieden. Die Zuordnung erfolgte am Anfang der Therapie und wurde über die gesamte Dauer der Behandlung beibehalten.

Es zeigte sich, dass die okklusive Applikation der erfindungsgemäßen Extrakte der Anwendung mit Fibrolan® Salbe in bezug auf debridierende Wirkung und der Geschwindigkeit des Wundverschlusses deutlich überlegen war. Der Behandlungserfolg wurde an Hand von Farbaufnahmen dokumentiert.

Bei einer 87 Jahre alten Patientin, die seit Jahren an Ulzera curum vaskulitischer Genese leidet, wurde der gemäß Beispiel 1 hergestellte Fliegenlarvenextrakt eingesetzt. Nach der systemischen Einnahme von Steroiden traten keine weiteren Ulzerationen auf. Die Lokaltherapie erfolgte vergleichend mit Fibrolan® Salbe und den erfindungsgemäßen Extrakten. Das Ulkus, welches mit den erfindungsgemäßen Extrakten behandelt wurde zeigte am Anfang eine stärkere nekrotische und fibrinöse Belegung als der Vergleichsulkus, der mit Fibrolan® Salbe behandelt wurde. Nach 8 Tagen Behandlung zeigte sich ein deutlich schnelleres Debridement des Ulcus, welches mit den erfindungsgemäßen Extrakten behandelt wurde, im Vergleich mit der Fibrolan® Salbe. Der Behandlungserfolg wurde an Hand von Farbaufnahmen dokumentiert.

Patentansprüche:

1. Fliegenlarvenextrakt, erhältlich aus Fliegenlarven, wobei die Fliegenlarven
5 gekühlt und dann homogenisiert werden und aus dem erhaltenen Homogenisat
abschließend die nicht gelösten Bestandteile der Fliegenlarven abgetrennt
werden.
2. Fliegenlarvenextrakt gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass vor der
10 Homogenisierung ein Extraktionsmedium zugefügt wird.
3. Fliegenlarvenextrakt gemäß der Ansprüche 1 oder 2, erhältlich aus
Fliegenlarven der Gattungen Sarcophaga, Lucilia, Musca, Calliphora und/oder
Stomoxys oder Mischungen aus Vertretern dieser Gattungen oder aus den
15 Arten *Lucilia sericata*, *Lucilia caesar*, *Lucilia cuprina*, *Sarcophaga carnaria*,
Sarcophaga agyrostoma, *Musca domestica*, *Calliphora erythrocephala*,
Calliphora vicina oder *Stomoxys calcitrans*.
4. Fliegenlarvenextrakt gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3,
20 dadurch gekennzeichnet, dass die Fliegenlarven 5 bis 8 Tage alt sind.
5. Fliegenlarvenextrakt gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet, dass die Homogenisierung der Fliegenlarven in
gefrorenem Zustand bei Temperaturen unter 0 °C oder die Homogenisierung
25 und Abtrennung von unlöslichen Bestandteilen bei Temperaturen von 0 °C bis
15 °C, bevorzugt von 0 °C bis 10 °C, insbesondere von 2 °C bis 6 °C erfolgt.
6. Fliegenlarvenextrakt gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet, dass die Homogenisierung durch mechanisch
30 Zerkleinerung oder durch Ultraschall erfolgt.

7. Fliegenlarvenextrakt gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass als Extraktionsmedium Wasser, physiologische Salzlösungen, Puffer, Elektrolyt-, Zucker- oder Proteinlösungen, Emulsionen oder organische Lösungsmittel eingesetzt werden.
- 5
8. Fliegenlarvenextrakt gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass als Extraktionsmedium ein organisches Lösungsmittel eingesetzt wird zur Fällung und nachfolgenden Extraktion der Wirkstoffe.
- 10
9. Fliegenlarvenextrakt gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 2 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass je Gramm Nassgewicht Fliegenlarven 0,1 ml bis 500 ml Extraktionsmedium, vorzugsweise 0,5 ml bis 100 ml, ganz bevorzugt 1 bis 5 ml Extraktionsmedium zugesetzt werden.
- 15
10. Fliegenlarvenextrakt gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass im Homogenisat die Trennung von unlöslichen Bestandteilen durch Zentrifugation oder Filtration erfolgt.
- 20
11. Fliegenlarvenextrakt gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass der Fliegenlarvenextrakt durch Einfrieren oder Lyophilisation konserviert wird.
- 25
12. Verfahren zur Herstellung des Fliegenlarvenextrakts gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass Fliegenlarven vor der Verpuppung getötet und unter Kühlung homogenisiert und aus dem erhaltenen Homogenisat nicht gelöste Bestandteile abgetrennt werden.
- 30
13. Verfahren gemäß Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass Fliegenlarven der Gattungen Sarcophaga, Lucilia, Musca, Calliphora und/oder Stomoxys oder Mischungen der Gattungen eingesetzt werden oder die Arten *Lucilia sericata*, *Lucilia caesar*, *Lucilia cuprina*, *Sarcophaga carnaria*, *Sarcophaga agyrostroma*,

Musca domestica, Calliphora erythrocephala, Calliphora vicina oder Stomoxys calcitrans eingesetzt werden.

14. Verfahren gemäß der Ansprüche 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, dass die
5 Fliegenlarven vor der Homogenisierung von ausgeschiedenen Sekreten und Exkreten der Larven durch Waschen befreit werden.
15. Verfahren gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 12 bis 14, dadurch
10 gekennzeichnet, dass vor der Homogenisierung ein Extraktionsmedium zugesetzt wird und die Homogenisierung mechanisch oder durch Ultraschall erfolgt.
16. Verfahren gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 12 bis 15, dadurch
15 gekennzeichnet, dass als Extraktionsmedium Wasser, physiologische Salzlösungen, Puffer, Elektrolyt-, Zucker- oder Proteinlösungen, Emulsionen oder organische Lösungsmittel eingesetzt werden
17. Verfahren gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 12 bis 16, dadurch
20 gekennzeichnet, dass die Homogenisierung bei Temperaturen unter 0 °C oder bei Temperaturen von 0 °C bis 15 °C, bevorzugt von 0 °C bis 10 °C, insbesondere von 2 °C bis 6 °C erfolgt.
18. Verfahren gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 12 bis 17, dadurch
25 gekennzeichnet, dass die Trennung von unlöslichen Bestandteilen durch Zentrifugation oder Filtration erfolgt.
19. Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen wirksamen Gehalt des
30 Fliegenlarvenextrakts gemäß der Ansprüche 1 bis 11 zusammen mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Trägerstoff.

20. Verwendung des Fliegenlarvenextrakts gemäß der Ansprüche 1 bis 11 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Therapie von oberflächlichen oder tiefen chronischen und akuten Wunden jeglicher Genese.
- 5 21. Verwendung gemäß Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass eine galenische Zusammensetzung zur topischen Anwendung auf der Haut eingesetzt wird, beispielsweise als Lösung, Suspension, Puder, Creme, liposomalen Formulierungen, Gel, Lotion, Paste, Spray oder Aerosol.
- 10 22. Verwendung gemäß der Ansprüche 20 oder 21, dadurch gekennzeichnet, dass der Fliegenlarvenextrakt in einer Konzentration von 0,1 Gew.-% bis 100 Gew.-% in der galenischen Zusammensetzung eingesetzt werden.
- 15 23. Verwendung gemäß Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass eine galenische Zusammensetzung für transdermale Anwendungen als Pflaster vorliegt.
- 20 24. Verwendung gemäß Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass der Fliegenlarvenextrakt gemäß der Ansprüche 1 bis 11 in einer Wundauflage aus Gaze, aus Alginaten, aus hydrokolloidalen Materialien, Schaumstoffen oder Silikonauflagen, die jeweils mit dem genannten Fliegenlarvenextrakt beschichtet oder getränkt sind, vorliegt.
- 25 25. Verwendung gemäß Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass der Fliegenlarvenextrakt gemäß der Ansprüche 1 bis 11 in galenischen Zubereitungen eingesetzt wird, worin der Fliegenlarvenextrakt in inaktiver Form enthalten ist und die Zubereitung anschließend auf die Wunde auftragen und durch Zugabe von spezifischen Substanzen der Fliegenlarvenextrakt aktiviert wird.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No
PCT/EP 02/08497

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K35/64 A61P17/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, CHEM ABS Data, PHARMAPROJECTS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 284 965 A (SANWA KAGAKU KENKYUSHO CO) 5 October 1988 (1988-10-05) * see abstract, column 2, lines 28-48, example 1 on column 3 *	1-25
Y	F. M BARRETT : "Purification of Phenolic Compounds and a Phenoloxidase from larval Cuticle of the red-humped Oakworm "Symmerista-Cannicosta" ARCHIVES OF INSECT BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY, vol. 1, no. 3, 1984, pages 213-224, XP009002636 * see abstract, page 214, paragraph 2, page 215, paragraph 2+3 *	1-25

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 December 2002

Date of mailing of the international search report

27/12/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stoltner, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 02/08497

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 4 960 756 A (NATORI SHUNJI) 2 October 1990 (1990-10-02) * see abstract, column 1, line 60 with column 2, line 1-16 *	1-25
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 008, no. 098 (C-221), 9 May 1984 (1984-05-09) & JP 59 013730 A (WAKUNAGA SEIYAKU KK), 24 January 1984 (1984-01-24) * see abstract *	1-25
Y	CONSTABLE S A: "A COMPARISON OF PROTEASES PRODUCED BY LARVAE OF LUCILIA CUPRINA (WIEDEMANN), L SERICATA (MEIGEN), CALLIPHORA AUGUR (F) AND C STYGIA(F) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)" AUSTRALIAN JOURNAL OF ENTOMOLOGY, AUSTRALIAN ENTOMOLOGICAL SOCIETY, CANBERRA,, AU, vol. 33, no. 3, 1994, pages 203-210, XP000980193 ISSN: 1326-6756 * see abstract, page 204, right hand column, paragraph 2 with paragraph 1 on right hand column *	1-25
Y	YOUNG A R ET AL: "CHARACTERIZATION OF ES PRODUCTS INVOLVED IN WOUND INITIATION BY LUCILIA CUPRINA LARVAE" INTERNATIONAL JOURNAL OF PARASITOLOGY, PERGAMON PRESS, GB, vol. 26, no. 3, 1996, pages 245-252, XP000978826 ISSN: 0020-7519 * see abstract, and page 246, left hand column, paragraph 2 *	1-25
Y	SANDEMAN R M ET AL: "TRYPTIC AND CHYMOTRYPTIC PROTEASES RELEASED BY LARVAE OF THE BLOWFLY, LUCILIA CUPRINA" INTERNATIONAL JOURNAL OF PARASITOLOGY, PERGAMON PRESS, GB, vol. 20, no. 8, 1990, pages 1019-1023, XP000978819 ISSN: 0020-7519 * see abstract, *	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 02/08497

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0284965	A	05-10-1988	JP 63243099 A EP 0284965 A2 US 5118789 A	07-10-1988 05-10-1988 02-06-1992
US 4960756	A	02-10-1990	JP 63164895 A EP 0260497 A2	08-07-1988 23-03-1988
JP 59013730	A	24-01-1984	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/08497

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K35/64 A61P17/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, CHEM ABS Data, PHARMAPROJECTS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 284 965 A (SANWA KAGAKU KENKYUSHO CO) 5. Oktober 1988 (1988-10-05) *siehe Zusammenfassung, Spalte 2, Zeilen 28-48, Beispiel 1 auf Spalte 3*	1-25
Y	F. M BARRETT : "Purification of Phenolic Compounds and a Phenoloxidase from larval Cuticle of the red-humped Oakworm "Symmerista-Cannicosta" ARCHIVES OF INSECT BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY, Bd. 1, Nr. 3, 1984, Seiten 213-224, XP009002636 *siehe Zusammenfassung, Seite 214, Absatz 2, Seite 215, Absatz 2+3*	1-25

-/-

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. Dezember 2002

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

27/12/2002

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Stoltner, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inr 1ales Aktenzeichen

PCT/EP 02/08497

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
Y	US 4 960 756 A (NATORI SHUNJI) 2. Oktober 1990 (1990-10-02) *siehe Zusammenfassung, Spalte 1, Zeile 60 mit Spalte 2, Zeilen 1-16*	1-25
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 008, no. 098 (C-221), 9. Mai 1984 (1984-05-09) & JP 59 013730 A (WAKUNAGA SEIYAKU KK), 24. Januar 1984 (1984-01-24) *siehe Zusammenfassung*	1-25
Y	CONSTABLE S A: "A COMPARISON OF PROTEASES PRODUCED BY LARVAE OF LUCILIA CUPRINA (WIEDEMANN), L SERICATA (MEIGEN), CALLIPHORA AUGUR (F) AND C STYGIA(F) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)" AUSTRALIAN JOURNAL OF ENTOMOLOGY, AUSTRALIAN ENTOMOLOGICAL SOCIETY, CANBERRA,, AU, Bd. 33, Nr. 3, 1994, Seiten 203-210, XP000980193 ISSN: 1326-6756 *siehe Abstrakt, Seite 204, Spalte rechts, Absatz 2 mit Absatz 1 auf rechter Spalte*	1-25
Y	YOUNG A R ET AL: "CHARACTERIZATION OF ES PRODUCTS INVOLVED IN WOUND INITIATION BY LUCILIA CUPRINA LARVAE" INTERNATIONAL JOURNAL OF PARASITOLOGY, PERGAMON PRESS, GB, Bd. 26, Nr. 3, 1996, Seiten 245-252, XP000978826 ISSN: 0020-7519 *siehe Abstrakt, sowie Seite 246, Spalte links, Absatz 2*	1-25
Y	SANDEMAN R M ET AL: "TRYPTIC AND CHYMOTRYPTIC PROTEASES RELEASED BY LARVAE OF THE BLOWFLY, LUCILIA CUPRINA" INTERNATIONAL JOURNAL OF PARASITOLOGY, PERGAMON PRESS, GB, Bd. 20, Nr. 8, 1990, Seiten 1019-1023, XP000978819 ISSN: 0020-7519 *siehe Abstrakt*	1-25

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/08497

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0284965 A	05-10-1988	JP 63243099 A	07-10-1988
		EP 0284965 A2	05-10-1988
		US 5118789 A	02-06-1992
US 4960756 A	02-10-1990	JP 63164895 A	08-07-1988
		EP 0260497 A2	23-03-1988
JP 59013730 A	24-01-1984	KEINE	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)